

· 研究快报 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2008.05.002

荧光磁性纳米粒子与 PSA 单链抗体复合探针对前列腺癌的靶向显像和治疗

韩月东¹, 崔大祥^{2*}, 宦怡¹, 李智铭², 刘贺亮³, 宋华², 刘彬², 杜彤², 高峰², 贺蓉² (1. 第四军医大学西京医院放射医学科, 西安 710032; 2. 上海交通大学微纳科技研究院生物纳米工程研究室, 微纳制造技术国家重点实验室, 薄膜微细教育部重点实验室, 上海 200240; 3. 第四军医大学西京医院泌尿外科, 西安 710032)

[摘要] 目的: 研究荧光磁性纳米粒子与前列腺癌特异性抗原(prostate cancer specific antigen, PSA)单链抗体片段结合的复合纳米探针作为前列腺癌核磁共振靶向显像剂与治疗剂的可行性。方法: 荧光磁性纳米粒子(FMCNPs)与前列腺癌特异性单链抗体片段(ScFv)桥联制备成复合纳米探针(FMCNPs-ScFv), 应用高分辨电镜、荧光光谱仪与磁强度计进行鉴定。将FMCNPs-ScFv与前列腺癌LNCaP细胞共培养, 观察其进入癌细胞的靶向性; 采用MTT法评价复合纳米探针的细胞毒性。建立裸鼠前列腺癌细胞移植模型, 进行免疫组化和病理学鉴定; 荷前列腺癌裸鼠尾静脉注射复合纳米探针, 采用荧光成像系统观察纳米探针在裸鼠体内的分布消除过程; 利用核磁共振观察复合纳米探针肿瘤靶向显像效果; 给予体外磁场照射(100 W功率)30 min, 观察肿瘤体积的变化。结果: 成功制备复合纳米探针FMCNPs-ScFv; 细胞培养实验显示复合纳米探针能够进入前列腺癌细胞质; 在显像浓度范围内复合纳米探针细胞毒性很低, 不影响细胞增殖。成功制备裸鼠前列腺癌模型。荧光成像系统显示复合纳米探针快速地在裸鼠各重要器官分布, 并逐渐集中于肿瘤部位; 核磁共振显示纳米探针在24 h内能够清晰显示前列腺癌图像; 体外磁场照射4 d后, 注射复合纳米探针的裸鼠肿瘤组织生长显著慢于对照裸鼠的肿瘤组织($P < 0.05$)。结论: 制备的复合纳米探针FMCNPs-ScFv能有效地靶向前列腺癌组织, 可用于前列腺癌的核磁共振成像, 也能用于体外磁场作用下的肿瘤治疗。

[关键词] 前列腺癌; 荧光磁性纳米粒子; 前列腺癌特异性抗原单链抗体; 纳米探针; 核磁共振成像; 靶向治疗

[中图分类号] R737.25; R730.4; R730.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2008)05-0406-06

Nanocomposite probes composed of fluorescent magnetic nanoparticles and PSA ScFv antibody for targeted imaging and therapy of prostate cancer

HAN Yue-dong¹, CUI Da-xiang^{2*}, HUAN Yi¹, LI Zhi-ming², LIU He-liang³, SONG Hua², LIU Bing², DU Tong², GAO Feng², HE Rong² (1. Department of Radio-medicine, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. Department of Bio-Nano Science and Engineering, National Key Laboratory of Micro-Nano Fabrication Technology, Institute of Micro-Nano Science and Technology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240; 3. Department of Urology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, 710032, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the feasibility of targeted imaging and therapy of prostate cancer using nanocomposite probes composed of fluorescent magnetic nanoparticles (FMCNPs) and single chain Fv (ScFv) antibody specific for gamma-seminoprotein. **Methods:** The nanocomposite probes (FMCNPs-ScFv) were prepared by conjugating fluorescent magnetic nanoparticles with single gamma-chain Fv antibody specific gamma-seminoprotein, and were characterized by high resolution transmission electron microscopy, fluorescent spectrum and magnetic spectrum. Nanocomposite probes were incubated with prostate cancer LNCaP cells, and the targeting results of nanocomposite probes were observed by fluorescent microscopy. The cytotoxicity effect of the nanocomposite probes was measured by MTT. Nude mice models of prostate

[基金项目] 国家重点基础研究发展(973)计划资助项目(No. 2005CB723400-G); 国家高技术研究发展(863)计划重点项目(No. 2007AA022004); 国家自然科学基金资助项目(No. 30771075; No. 30672147); 浦江人才计划项目(No. 06PJ14049); 上海市纳米专项基金项目(No. 0752nm024); 上海市科委基金资助项目(No. 072112006-6)。Supported by the Major State Basic Research Development Program (973) of China (No. 2005CB723400-G); the National High Technology Research and Development Program (863) of China (No. 2007AA022004); the National Natural Science Foundation of China (No. 30771075; No. 30672147)

[作者简介] 韩月东(1965-), 男, 天津市人, 医学博士, 副教授, 主要从事肿瘤靶向诊断治疗技术的研究

* Corresponding author. E-mail: dx cui@sjtu.edu.cn

cancer were established and identified by immunohistochemistry method. The nanocomposite probes were injected into nude mice *via* tail vein. The distribution of nanocomposite probes in the nude mice was observed by Micro-animal imaging system, targeted imaging of the prostate cancer was observed by MR instrument. The nude mice with prostate cancer were irradiated with 100 W magnetic field for 30 min, and the changes of tumor sizes were observed. **Results:** The FMCNPs-ScFv nanocomposite probes were successfully prepared. Nanocomposite probes entered into the cytoplasm of cancer cells and exhibited low cytotoxicity effect. Nude mice model with prostate cancer were successfully fabricated; the nanocomposite probes distributed quickly in the main organs of mice, and gradually concentrated on the tumor tissues within 24 h. MR images showed that the tumor images were gradually enhanced from 6 h to 24 h after injection of the nanocomposite probe. Four days after magnetic irradiation, the tumors in the nude mice grew slower compared with the control nude mice ($P < 0.05$). **Conclusion:** The nanocomposite probes composed of FMCNPs and ScFv antibody can be used for targeted imaging of prostate cancer by MRI instrument and for therapy under *in vitro* magnetic field.

[**Key words**] prostate cancer; fluorescent magnetic nanoparticles; single chain Fv antibody against prostate cancer specific antigen; nanocomposite probe; targeting imaging; targeting therapy

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(5): 406-411]

前列腺癌是老年人最常见的肿瘤之一,寻找它的特异性标记物并制备相应抗体是其特异性诊断和免疫治疗的重要课题^[1]。γ-精浆蛋白(γ-seminoprotein)是众多前列腺癌标记物中已经被广泛认可的前列腺特异性抗原(prostate cancer specific antigen, PSA),它在前列腺癌的诊断和治疗中发挥着巨大的作用^[2]。鉴于抗 PSA 全抗体分子量大、穿透力差等诸多不足,研究将其单链抗体应用于靶向性诊断和治疗已成为前列腺癌研究的一个热点。前期研究^[3-5]已证明,树形分子修饰的磁性纳米粒子能够携带基因治疗肿瘤。本实验在制备抗 PSA 特异性单链抗体 ScFv 肽段^[6]与荧光磁性纳米粒子^[7]的基础上,将两者桥联制备复合纳米探针,观察此探针在前列腺癌荧光与核磁共振靶向显像的效果,及其在体外磁场下杀伤前列腺癌细胞的作用,为临床应用此探针实现前列腺癌患者靶向显像治疗一体化奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料与仪器

胰蛋白酶、RPMI 1640 培养基与胎牛血清购自 Gibco 公司,免疫组化试剂盒购自博士德公司,其他试剂都购于 Sigma 公司。5~6 周龄 BALB/c 裸鼠购自上海交通大学动物实验中心,动物合格证号为 [SCXK(沪)2007-0005]。人原发性前列腺癌(prostate cancer, PCa)细胞株 LNCaP 与人胚肾 HEK293 细胞来源于美国 ATCC 公司。MRPHILIPS 1.5 Tesla 磁共振机由西京医院影像科提供。小动物荧光成像系统 Explore Optix 由上海交通大学药学院提供。硅包裹的荧光磁性纳米粒子(FMCNPs)与抗 PSA 特异

性单链抗体 ScFv 肽段由交大制备提供^[4,5]。

1.2 复合纳米探针的制备

0.5 ml (2 mg/ml) 荧光磁性纳米粒子(FMCNPs)^[7]被磁分离并用 PBS(pH = 7.4)溶液洗 2 次,分散在 1 ml 戊二醛溶液中,充分超声并保持在完全分散状态,反应 3 h。然后粒子被磁分离,并用 PBS 洗 3 次。将荧光磁性粒子悬浮在 0.5 ml PBS 溶液中,加入 400 μl (2 mg/ml) PSA 特异性单链抗体 ScFv 肽段,4 °C 反应 24 h,采用磁架分离,最终获得复合纳米探针 FMCNPs-ScFv,冷冻干燥后,测量质量备用。利用高分辨电镜(TEM JEM2010)、荧光分光光度计(Perkin Elmer LS 55 spectrofluorimeter)与磁力计(PPMS-9 T)对制备的复合纳米探针鉴定。

1.3 细胞培养观察与 MTT 分析

前列腺癌细胞株 LNCaP 细胞与人胚肾 HEK293 细胞以 RPMI 1640 完全培养液在 37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养。将处于对数生长期细胞用 0.025 mg/L 胰蛋白酶消化,回收并传代,细胞长至 80% 或融合成片时,再次消化,加入完全培养液,传代于 48 孔培养板与培养瓶中待用。把纳米探针加入到细胞培养板中,控制终质量浓度为 20 μg/ml,培养 1 h,采用荧光显微镜观察复合纳米探针进入前列腺癌细胞与 HEK293 细胞情况,然后采用 MTT 法分析不同浓度纳米探针对于前列腺癌细胞存活率的影响。

1.4 建立荷人前列腺癌裸鼠模型^[8-9]

将呈对数生长的 LNCaP 细胞移入 10 ml 离心管中,低速离心(1 000 × g) 10 min,去上清液,用无血清 RPMI 1640 培养液制成细胞悬液(1 × 10⁷/ml)。取 5~6 周龄 BALB/c 裸鼠 10 只,雌雄不限,右后大

腿内侧皮下注射 LNCaP 细胞 2×10^6 个(体积 0.2 ml)。标准饲养 4 周左右, 肿瘤长径至 8 ~ 15 mm 时, 断颈处死裸鼠模型 2 只, 完整剥离瘤体, 观察肿瘤的侵犯和粘连情况, 测量肿瘤大小。常规固定、切片, H-E 染色及免疫组化染色检测。

1.5 纳米复合探针作用后肿瘤模型的荧光成像与核磁共振成像^[10-12]

利用荷人前列腺癌裸鼠模型, 标准饲养 4 周左右, 肿瘤长径至 8 ~ 15 mm 时, 把 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 纳米探针注射进入尾静脉, 10 min 后开始采用荧光成像系统, 观察纳米探针在体内分布与消除过程; 在探针注射后 6、12 与 24 h, 采用 MR 仪器对肿瘤部位进行 MR 分子成像。

1.6 体外磁场对纳米复合探针作用下的前列腺癌生长的影响

制备 10 只荷人 PCa 裸鼠模型, 肿瘤长径至 8 ~ 15 mm 时, 分别把 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 纳米探针注射入 5 只裸鼠尾静脉, 作为动物实验组; 另 5 只不注射纳米探

针, 作为对照组。饲养 24 h 后, 裸鼠置于 100 W 功率的磁场设备内辐射 30 min, 第 2、4、8、16 d 处死小鼠, 取出肿瘤组织, 测量体积。

1.7 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 复合纳米探针制备后的鉴定

如图 1A 所示, 制备的荧光磁性纳米粒子体积大小一致, 磁性纳米粒子与量子点被二氧化硅包裹, 呈核壳结构; 右下框中放大图显示粒子直径约 50 nm。图 1B 显示 ScFv 联接后的荧光磁性纳米粒子仍然具有荧光特性, 而且荧光特征峰左移。图 1C 显示纳米探针在室温下的磁滞曲线, 表明纳米探针具有超顺磁性, 其磁饱和度为 3.24 emu/g。结果表明合成的纳米探针既具有荧光特性, 又具有磁性能。

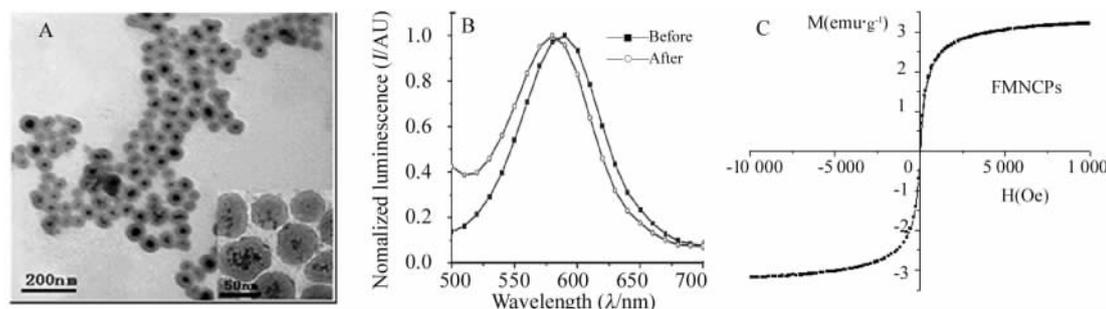


图 1 制备的复合纳米探针的鉴定结果

Fig. 1 Characterization of prepared nanoprobes

A: HR-TEM image of FMCNPs; B: Fluorescent spectroscopy of ScFv-FMCNPs nanoprobes;

C: Magnetic intensity curve of ScFv-FMCNPs nanoprobes at room temperature

2.2 纳米复合探针在癌细胞中的定位及对癌细胞的毒性作用

如图 2A 所示, 荧光成像系统检测显示 ScFv-FMCNPs 纳米复合探针位于前列腺癌细胞表面与细胞质内。如图 2B 所示, ScFv-FMCNPs 复合探针很少进入对照 HEK293 细胞胞质, 仅仅黏附在细胞膜上, 用 PBS 洗后可除去。此结果表明, ScFv-FMCNPs 复合探针具有前列腺癌细胞靶向性。图 2C 示 MTT 检测结果, 显示 ScFv-FMCNPs 复合探针随着使用剂量与细胞培养时间的增加, 癌细胞存活率逐渐降低; 在 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 复合纳米探针与培养 96 h 时, 癌细胞存活率降低幅度小于 20%。表明复合纳米探针对于前列腺癌细胞增殖抑制作用很小, 其细胞毒性较低。

2.3 荷瘤裸鼠模型的鉴定

荷瘤裸鼠在第 1 ~ 2 周即可触及皮下肿瘤, 4 周左右肿瘤长径可达 8 ~ 15 mm。如图 3A 与 3B 所示, 肿瘤位于鼠右大腿内侧, 包膜完整, 表面凹凸不平, 呈分叶状。病理学检查结果显示, 肿瘤包膜比较完整, 与肌肉轻度粘连, 切面灰白色鱼肉状, 密布微细血管。H-E 染色可见癌细胞大小不一, 极性丧失, 胞核多不规则, 并有病理性核分裂像(图 3C)。免疫组化染色显示, 免疫反应物为棕黄色, PSA 颗粒较大, 位于细胞质内(图 3D)。

2.4 复合纳米探针在荷前列腺癌裸鼠体内的分布与探针的靶向性

动物荧光成像系统显示, 纳米探针注射进入体

内后, 迅速分布到全身心、肝、脾、肺、肾等重要器官, 如箭头所示, 6 h 后逐渐地集中到肿瘤组织部位(图 4A)。全身器官中纳米探针在 24 h 后基本消失, 纳米探针主要集中在肿瘤组织部位(图 4B)。

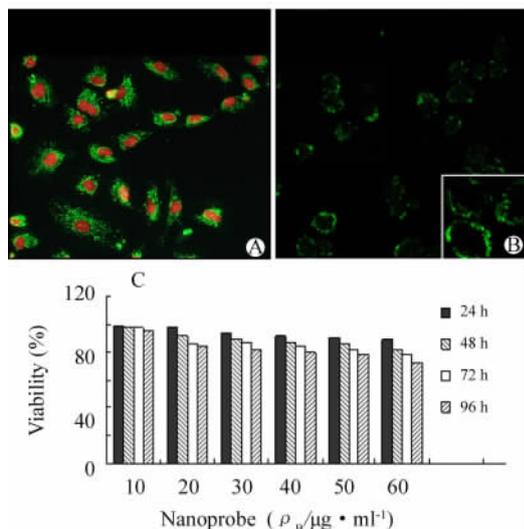


图 2 纳米探针在癌细胞中的定位及对癌细胞的毒性作用

Fig. 2 Mapping of nanocomposite probes in the cancer cells and their cytotoxicity

A: Fluorescent microscopy image of nanoprobes in the cytoplasm of prostate cancer cells($\times 20$), nucleus stained with DIPC; B: Fluorescent microscopy image of nanoprobes attached to the surface of HEK293 cells($\times 20$); C: Effects of nanoprobes on the viability of cancer cells

MR 成像显示在注射纳米探针 6 h 后, 肿瘤出现了轻度的强化, 在 12 和 24 h 都有明显的强化, 肿瘤的信号强度显著降低; 而平扫和增强的对照组则无明显强化(图 5)。说明纳米探针进入体内后保留了很强的免疫活性, 随着时间的延长, 纳米探针逐渐聚集于肿瘤部位, 与 PSA 抗原结合并进而使肿瘤特异性持续性显影。在增强对照组, FMCNPs 与肿瘤没有发生特异性结合, 从体内逐渐清除, 故肿瘤信号变化不明显。

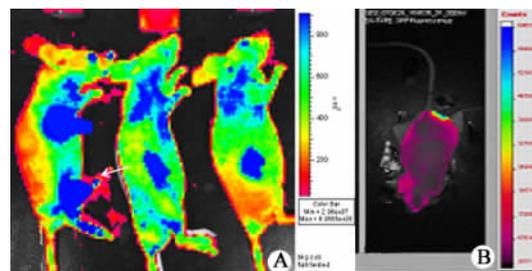


图 4 实时荧光观察纳米探针在裸鼠体内分布

Fig. 4 Images of nanoprobes distribution in the nude mice with prostate cancer by animal imaging system

A: Distribution of nanoprobes in the important organs at 1 h after injection. The arrow indicates the position of tumor tissues; B: Distribution of nanoprobes in mouse at 24 h after injection

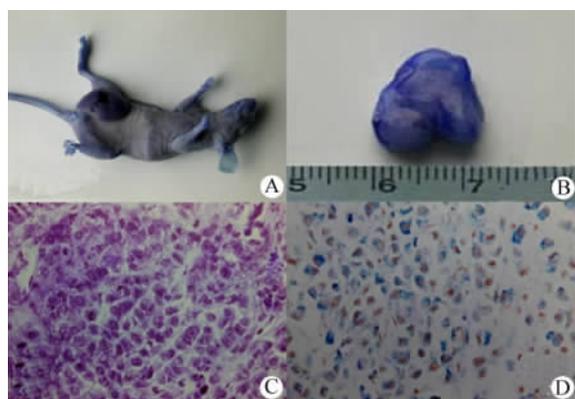


图 3 裸鼠前列腺癌组织的病理学改变

Fig. 3 Pathological changes of nude mice harboring prostate cancer tissue

A: Image of a nude mouse with tumor; B: Image of tumor size; C: H-E staining result($\times 20$); D: Immunohistochemistry result: PSA antigen located in the cytoplasm($\times 20$)

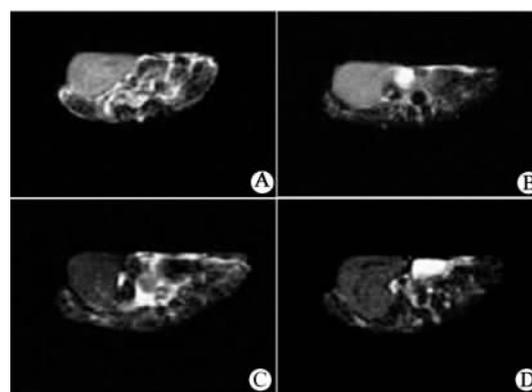


图 5 复合纳米探针前列腺癌组织的靶向性 MR 成像

Fig. 5 MR images of nanocomposite probes targeting prostate cancer

A: MR image of prostate cancer before ScFv-FMCNPs injection; B: MR image of prostate cancer at 6 h after injection; C: MR image of prostate cancer at 12 h after injection; D: MR image of prostate cancer at 24 h after injection

2.5 纳米探针前列腺癌组织的靶向性 MR 成像

2.6 体外磁场对纳米复合探针作用下的肿瘤组织生长的影响

如图 6 所示,在体外磁场辐射治疗 4 d 后,实验组肿瘤体积开始小于对照组,第 6 天后两组肿瘤体积差异具有统计学意义($P < 0.05$)。此结果表明,进入肿瘤部位的复合纳米粒子在体外磁场辐射下,能够抑制肿瘤细胞生长。

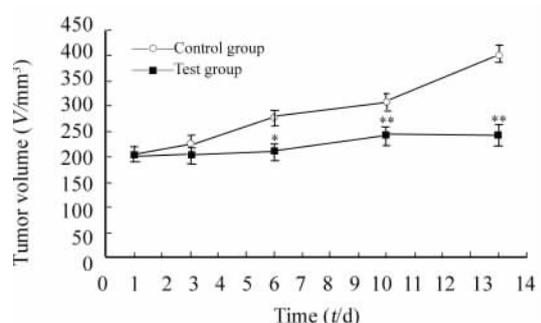


图 6 体外磁场对纳米探针作用下的前列腺癌体积的影响

Fig. 6 Effect of *in vitro* magnetic field on the tumor size

Test group: tumors were irradiated for 30 min under 100 W magnetic field, and the size of tumor was measured; Control group: nude mice loaded with tumor without irradiation.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

纳米生物学是一个快速发展的材料工程及医学高度交叉的新兴领域,把纳米科技与现代肿瘤的研究成果结合起来,为早期肿瘤靶显像治疗一体化提供了新的机遇与发展空间^[13-15],加速肿瘤纳米诊断治疗技术一体化的研究为最终攻克肿瘤提供了新的思路。本研究把拥有自主知识产权的荧光磁性纳米粒子与前列腺癌特异性单链抗体 ScFv 结合起来,制成复合纳米探针;实验证明了此探针既具有荧光信号,又具有磁性能,而且具有特异性识别前列腺癌细胞的靶向性。MTT 分析显示,此探针在成像浓度范围内几乎不具有细胞毒性;荧光成像系统研究证实,此探针在裸鼠体内迅速分布到各重要器官,如心、肝、脾、肺、肾,但是脑组织几乎观察不到荧光信号,这可能与纳米探针不能透过血脑屏障有关;进入体内的纳米探针在 24 h 内逐渐集中到肿瘤组织部位,展示出纳米探针良好的肿瘤靶向性。核磁共振显像也证明了纳米探针在进入体内 6 h 后逐渐集中到肿瘤组织,在 12 h 与 24 h 浓集更明显。在体外磁场作用下,纳米探针能有效抑制肿瘤生长。本研究首次证实制备的纳米探针既可以作为前列腺癌的特异性造影剂,也能够用于肿瘤治疗。

磁性粒子作为磁共振造影剂的研究始于 20 世

纪 80 年代初。以超顺磁氧化铁(SPIOs)和细小超顺磁性氧化铁(USPIOs)为代表的超顺磁性纳米粒子造影剂,通过明显改变质子从激发态到基态的衰减时间,包括纵向弛豫时间(T_1)和横向弛豫时间(T_2),来提高 MR 成像对病变的检出^[16-17]。但这些粒子由于没有分子靶向的特异性且弛豫信号较弱,均不能用于 MR 分子显影^[18],仅能用于肝转移瘤、原发性肝癌、血管造影、淋巴造影等被动靶向 MR 造影。超顺磁性纳米粒子应用于分子影像探针的开创性工作始于 21 世纪初。Weissleder 小组^[19]为了实现转铁蛋白受体的成像,采用转铁蛋白(tf)与超顺磁性单晶氧化铁微粒(MION)结合物(tf-MION)为分子探针,MR 信号的放大率约是转铁蛋白(tf)的 10 000 倍;对含有工程化转铁蛋白受体(ETR)阳性肿瘤和 ETR 阴性肿瘤的裸鼠活体进行研究,MR 显示 ETR 阳性肿瘤处 tf-MION 的摄取明显增加。此后,又一类以纳米氧化铁为基础的对比剂(即 CLIO)被发现,其与转铁蛋白的复合物较 tf-MIONs 能更有力地检测基因表达及分子事件,对少量细胞转铁蛋白受体的表达更敏感,在其表面连接跨膜运输短肽 HIV-TAT 制备的 CLIO-Tat 已可标记造血干细胞及神经前体细胞^[20-21]。上述研究,开启了 MRI 分子影像研究的大门。但随着研究的深入,人们逐渐认识到上述分子探针仍存在严重缺陷,如这些粒子还不能提供足够的信号对比强度;在粒子表面修饰的探针还不能实现体内作用的最佳特异性与最优的生物分布^[16]。因此,新型纳米材料的制备与探针的表面修饰研究已成为分子影像探针新突破的关键。

近几年来超顺磁纳米粒子的合成技术有了重大的突破,特别是高温溶剂前驱体分解法已能合成出晶型十分完整、尺寸高度一致的粒子。这种新型的纳米粒子具有比传统共沉淀法合成的粒子强得多的 T_2 信号对比,显示作为 MR 分子影像标记探针的巨大潜力^[22-23]。本实验表明,制备的荧光磁性纳米粒子探针能够增强 T_2 信号对比,显示出作为 MR 分子影像标记探针的巨大潜力。另外,本实验制备的探针还具有荧光信号,为利用荧光信号进行肿瘤显像诊断提供了依据。结果表明荧光与磁共振同时显像为肿瘤诊断提供了新的分辨率与新的手段。本研究的初步结果与多模式成像趋势相一致。

关于纳米探针能够在肿瘤部位聚集的机制,可能与肿瘤组织丰富的营养血管密切相关^[23-24]。肿瘤细胞需要充分的营养,只能通过大量的微细血管来获取。肿瘤血管与正常血管相比,具有显著增强

的通透性。因此,纳米探针能够通过肿瘤血管达到肿瘤组织部位。由于表面带有特异性识别功能的 ScFv 单链抗体,能够识别并结合前列腺癌特异性抗原^[25],因此,纳米探针在肿瘤部位富集,而在其它部位很难长时间停留。纳米探针由于具有高磁饱和强度,在体外磁场作用下,能够产热,能够杀死肿瘤细胞,因此,体外磁场能够增强肿瘤细胞内部的纳米探针抑制肿瘤细胞生长的效应。

本研究首次证实了复合纳米探针 ScFv-FMCNPs 作为前列腺癌荧光成像与核磁共振对比剂与治疗剂的可行性。成功的主要原因有两个,一是建立的人 PCa LNCaP 细胞株裸鼠动物模型,免疫组化染色与免疫荧光检查结果证明了该细胞系具有高表达 PSA 的特性,具备进行 MR 分子成像的基础;二是制备的荧光磁性纳米粒子探针具有强的磁饱和度,同时具有特异性识别并结合 PSA 抗原的特性,能够在体外磁场下产热。尽管实验在肿瘤模型上获得初步的成功,但是人体与疾病模型的动物之间存在很大的差异性,在动物模型上取得成功未必能在复杂的个体上获得相同的效果,如何将成功的动物实验结果应用于临床还需要不断地探索。另外,制备的纳米探针在体内的安全性问题仍未充分解决^[26],因此,未来的另外一个重要工作将集中在纳米探针的安全性研究上。

[参 考 文 献]

- [1] Jemal A, Murray T, Samuels A, *et al.* Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2003,55(1): 10-30.
- [2] 马 乐,吴小晶,冉 俊. 前列腺癌肿瘤标记物研究的历史、现状和发展[J]. 中华医学检验杂志, 2001,24(4): 249-250.
- [3] You XG, He R, Gao F, *et al.* Hydrophilic high-luminescent magnetic nanocomposites [J]. Nanotechnology, 2007, 18(3), 035701.
- [4] 姚 航,岳隧岩,金跃明,等. 聚酰胺树形分子递送 survivin 反义脱氧寡核苷酸抑制裸鼠肝癌移植瘤[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2008, 15(1): 36-40.
- [5] 徐 萍,崔大祥,潘碧峰,等. 树形分录递送 survivin 反义寡核苷酸对 HegG2 细胞的抑制效应[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2007, 14(5): 411-416.
- [6] Han YD, Huan Y, Deng JL, *et al.* Expression of single-chain Fv gene specific for gama-seminoprotein by RTS and Its biological activity identification[J]. Biotechnol Pro, 2006, 22(4): 1084-1089.
- [7] Pan BF, Cui DX, Sheng Y, *et al.* Dendrimer-modified magnetic nanoparticles enhance efficiency of gene delivery system[J]. Cancer Res, 2007, 67(17): 8156-8163.
- [8] Perna S, Nicole SA. Mouse models of prostate cancer[J]. Oncogene, 1999,18(5): 5349-5355.
- [9] 王劲武,黄其鏊,许乙凯,等. GD 标记抗人大肠单克隆抗体 CT-3 对裸鼠肿瘤模型 MRI 诊断的实验研究[J]. 中华放射学杂志, 1998, 32(6): 419-422.
- [10] Hogemann D, Ntziachristos V, Josephson L, *et al.* High throughput magnetic resonance imaging for evaluating targeted nanoparticle probes[J]. Bioconjug Chem, 2002, 13(1): 116-121.
- [11] Hogemann D, Josephson L, Weissleder R, *et al.* Improvement of MRI probes to allow efficient detection of gene expression[J]. Bioconjug Chem, 2000, 11(6): 941-946.
- [12] Carson PL, Giger M. Biomedical imaging research opportunities workshop: report and recommendations overview of the workshop [J]. Acad Radiol, 2003,10(8):882-886.
- [13] Thrall JH. Nanotechnology and medicine[J]. Radiology, 2004, 230(2): 315-318.
- [14] Alivisatos P. The use of nanocrystals in biological detection[J]. Nat Biotechnol, 2004,22(1):47-52.
- [15] Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunitites and challenges [J]. Nat Rev Cancer, 2005,5(3):161-171.
- [16] Bulte JW, Douglas T, Witwer B, *et al.* Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and *in vivo* tracking of stem cells[J]. Nat Biotechnol, 2001,19(12): 1141-1147.
- [17] Herschman HR. Molecular imaging: Looking at problems, seeing solutions[J]. Science, 2003, 302(5645): 605-608.
- [18] Weissleder R, Mahmood U. Molecular imaging[J]. Radiology, 2001,219(2):316-333.
- [19] Lewin M, Carlesso N, Tung CH, *et al.* , Tat peptide-derivatized magnetic nanoparticles allow *in vivo* tracking and recovery of progenitor cells[J]. Nat Biotechnol, 2000,18(4):410-414.
- [20] Enochs WS, Harsh G, Hochberg F, *et al.* Improved delineation of human brain tumors on MR images using a long-circulating, superparamagnetic iron oxide agent[J]. J Magn Reson Imaging, 1999, 9(2): 228-232.
- [21] Blasberg RG. Molecular imaging and cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2003,2(3): 335-343.
- [22] Lee JH, Huh YM, Jun YW, *et al.* Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging[J]. Nat Med, 2007,13(1):95-99.
- [23] Xu RX, Pivoski SP. Diffuse optical imaging and spectroscopy for cancer[J]. Expert Rev Med Devices, 2007,4(1):83-95.
- [24] Vaupel P, Kallinowski F, Okunieff P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review[J]. Cancer Res, 1989,49(23):6449-6465.
- [25] 韩月东,邓金兰,宦 怡,等. 抗 γ -精浆蛋白特异性单链抗体的 RTS 表达及其生物学活性的鉴定[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2006,13(2):135-139.
- [26] Service RF. Nanomaterials show signs of toxicity[J]. Science, 2003,300(5617):243.

[收稿日期] 2008 - 09 - 30

[修回日期] 2008 - 10 - 10

[本文编辑] 韩 丹